

Gobierno de Chile

SERVICIO SALUD AYSÉN
HOSPITAL REGIONAL
COYHAIQUE

PROCEDIMIENTO DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD DEL RECIEN NACIDO

UNIDAD DE BANCO DE SANGRE Y MEDICINA TRANSFUSIONAL

DEPENDIENTE DE: SUB DPTO. APOYO DIAGNOSTICO Y TERAPEUTICO

Código:

Edición: 03

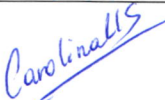
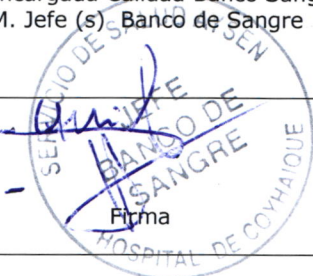

Fecha inicio vigencia:

02/03/2023

Páginas: 1 - 9

Vigencia: 5 años

PROCEDIMIENTO DETERMINACION DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD DEL RECIEN NACIDO

ELABORACION/ ACTUALIZACIÓN	REVISION	APROBACION
Carolina Llanquilef	Camila Barrientos S. Andrea Gómez C.	Paulina Arriagada Sandra Gálvez-
TM. Banco de Sangre	TM. Encargada Calidad Banco Sangre TM. Jefe (s) Banco de Sangre	OCSP
 Firma	 Firma	 firma y timbre
Fecha: 27/02/2023	Fecha: 02/03/2023	Fecha: 06/03/2023

1. INDICE:

TITULO	Nº de pág.
Introducción	3
Objetivos	3
Responsables	3
Alcance	3
Excepciones	3
Terminología	3
Descripción de las Actividades del Proceso	4
Referencias Bibliográficas	9
Evaluación	9
Indicadores	9
Anexos	9





2. INTRODUCCIÓN:

Los antígenos que determinan los diferentes grupos sanguíneos ABO y RhD se encuentran presentes en la membrana del glóbulo rojo de los individuos, siendo posible determinar el fenotipo mediante una reacción de aglutinación de los glóbulos rojos en presencia de antiseros específicos. En el recién nacido, estos antígenos no están completamente desarrollados y pueden observarse reacciones más débiles que en adultos, por lo que se recomienda el uso de antiseros de muy buena calidad.

Además, los anticuerpos correspondientes a los antígenos ABO no se desarrollan hasta los 3-6 meses de vida, por lo que no es posible determinar la prueba sérica en recién nacidos. Debido a esto, la clasificación formal del grupo ABO del recién nacido se posterga hasta el primer año de vida.

3. OBJETIVOS:

- Estandarizar el procedimiento técnico para la determinación de grupo sanguíneo ABO-RhD del Recién Nacido con Test de Coombs Directo en columna de gel y tubo.

4. RESPONSABLES:

RESPONSABLE	FUNCION
Jefe del Banco de Sangre	<ul style="list-style-type: none"> • Evaluar y supervisar el procedimiento.
Tecnólogos Médicos Banco Sangre	<ul style="list-style-type: none"> • Conocer, cumplir y aplicar el procedimiento. • Ejecutar técnicas. • Supervisión de las técnicas.
Técnicos Paramédicos	<ul style="list-style-type: none"> • Conocer el procedimiento. • Colaborar en la ejecución de las técnicas. • Mantener libros de registros.

5. ALCANCE

- Este procedimiento se aplicará a las muestras con solicitud de clasificación sanguínea del Recién Nacido y en estudios pre transfusionales.

6. EXCEPCIONES: N/A

7. TERMINOLOGIA

GR: Glóbulos rojos

PBS: buffer fosfato salino.

RN: Recién Nacido

TP: técnico paramédico

TM: tecnólogo médico.

Equipo Erytra Eflexis de Grifols: analizador automatizado para inmunohematología

Tarjetas DG Gel Newborn, Grifols: tarjetas de gel para clasificación de grupo sanguíneo en recién nacidos, incluye determinación ABO-RhD y prueba de Coombs Directo.

DG Gel Sol, Grifols: solución de baja fuerza iónica que se utiliza para la suspensión de los hematíes.

Soluciones de Lavado: DG Fluids (Solución A y Solución B), Grifols.

8. DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES DEL PROCESO

8.1 CONSIDERACIONES GENERALES

MUESTRA:

- Sangre de cordón umbilical con anticoagulante EDTA, tubo tapa lila.
- Sangre con anticoagulante EDTA, tubo tapa lila pediátrico.
- Criterios de rechazo de muestra: muestra hemolizada, turbias, contaminadas o con presencia de coágulos, muestra mal rotulada, tubo con derrame exterior.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

**Responsable: TP Inmunohematología
TM Inmunohematología y/o Turno**

- Recepcionar y verificar la identidad del paciente cotejando la solicitud de examen con la muestra de sangre correspondiente (Referirse a Manual de toma de muestras de banco de sangre vigente).
- Enumerar las muestras y solicitud de examen en orden correlativo.
- Centrifugar las muestras a 3000 rpm por 5 minutos.
- Enumerar un tubo de polipropileno y seguir "Procedimiento de lavado de glóbulos rojos en pruebas de inmunohematología" vigente.
- Ingresar solicitud de examen en el sistema informático del Banco de Sangre, imprimir etiquetas para identificar:
 - ✓ Tubo de muestra.
 - ✓ Tubo de GR lavados.
 - ✓ Solicitud de examen.
 - ✓ Paciente en libro Inmunohematología Recién Nacido.



8.2 DETERMINACIÓN AUTOMATIZADA DE GRUPO SANGUINEO ABO-RhD DEL RECIÉN NACIDO EN COLUMNA DE GEL.

Es la técnica de rutina.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Centrífuga para lavado de células.
- Gradilla de trabajo.
- Tubos de Khan de polipropileno.
- Equipo Erytra Eflexis.
- Tarjetas DG Gel Newborn, Grifols.
- DG Gel Sol.
- Soluciones de Lavado DG Fluids (Solución A y Solución B).
- PBS.
- Pipetas plásticas con bulbo

PROCEDIMIENTO:

Responsable: TM Inmunohematología y/o turno.

- Verificar que todos los tubos de muestras, GR lavados, estén identificados con su etiqueta correspondiente.
- Verificar estado de reactivos, tarjetas y soluciones en el equipo. Rellenar en caso de ser necesario.
- Cargar muestra en orden correlativo.
- Dirigirse a hoja de trabajo, elegir técnica e iniciar procesamiento:
 - ✓ 03. ABO-RH RN
- Revisar resultados y registrar en libro correspondiente.
- Transmitir resultados a sistema informático.
- Validar e informar.

8.3 DETERMINACIÓN MANUAL DE GRUPO SANGUÍNEO ABO-RhD DEL RECIÉN NACIDO EN COLUMNA DE GEL

Se utilizará en caso de que equipo Erytra Eflexis no se encuentre operativo.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras.
- Centrífuga para lavado de células.
- Gradilla de Trabajo.
- Tubos de Khan de polipropileno.
- Pipetas plásticas con bulbo.
- Micropipeta 10-100 ul.
- Puntas de pipetas desechables.
- PBS.
- DG Gel Sol.
- Tarjetas DG Gel Newborn.
- Centrífuga para tarjetas de gel, DG Spin Grifols.
- Caja de luz.

PROCEDIMIENTO:

Responsables: TM Inmunoematología y/o Turno.

- A)** Determinación de los antígenos del sistema ABO/RhD y Test de Coombs Directo (microtubos A/B/AB/D^{VI-}/D^{VI+}/Ctl. / IgG/ AGH).
- Preparar una suspensión de los hematíes lavados del RN al 1% en DG Gel Sol, (ej: 10 µl de sedimento o concentrado de hematíes en 1 ml de DG Gel Sol). Asegurar la resuspensión de los hematíes antes de utilizar.
 - Dispensar en cada uno de los microtubos indicados, 50 µl de suspensión de hematíes al 1%.
 - Centrifugar por 9 minutos en centrifuga para tarjetas DG Gel.
 - Leer y registrar los resultados en el libro correspondiente.
 - Ingresar resultados en sistema informático del Banco de Sangre.
 - Validar e informar resultados.

LECTURA DE LOS RESULTADOS:

Negativo	0	Sedimento bien definido de hematíes aglutinados en el fondo de la columna de gel y ausencia de células aglutinadas visibles en el resto de la columna de gel.
Positivo	+/-	Pequeñas acumulaciones, apenas visibles, de células aglutinadas en la parte inferior de la columna de gel y un sedimento de células sin aglutinar en el fondo.
	1+	Pequeñas acumulaciones de células aglutinadas, principalmente, en la mitad inferior de la columna de gel. También podría observarse un pequeño sedimento en el fondo de la columna de gel.
	2+	Acumulaciones de tamaño mediano o pequeño de células aglutinadas a lo largo de la columna de gel. También podrían observarse algunas células no aglutinadas en el fondo de la columna.
	3+	Acumulaciones de tamaño mediano de células aglutinadas en la mitad superior de la columna de gel.
	4+	Banda bien definida de hematíes aglutinados en la parte superior de la columna de gel. También podrían observarse algunas células aglutinadas por debajo de la banda.

Doble Población	Banda de hematíes en la parte superior (o dispersos a lo largo de la columna de gel) e inferior del gel. También podrían observarse algunas células aglutinadas por debajo de la banda.
Hemólisis	Hemólisis en el microtubo con muy pocos o ningún hematíe en la columna de gel.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Tabla 1. Sistema ABO:

Grupo hemático				
Microtubo A	Microtubo B	Microtubo AB	Microtubo Ctl.	Grupo ABO
0	0	0	0	O
+	0	+	0	A
0	+	+	0	B
+	+	+	0	AB

Tabla 2. Sistema Rh (antígeno D):

Anti D	Anti D'	CTL	Interpretación
+	+	0	D positivo
0	0	0	D negativo
0	+	0	D débil o parcial
+	0	0	D débil o parcial

NOTA: 0 = Negativo + = Positivo

OBSERVACIONES:

- El microtubo Ctl. debe ser negativo. Si es positivo, invalidar la prueba y repetir la determinación lavando previamente los hematíes con PBS y preparar de nuevo una suspensión de los hematíes lavados. Si el microtubo Ctl. de la repetición es negativo se pueden interpretar los resultados de la prueba
- Suspensiones de GR demasiado concentrados pueden causar reacciones falsas positivos.
- **Prueba antiglobulina directa (PAD) o Coombs Directo (CD):** prueba determinada por el resultado que se obtenga en los microtubos IgG y AGH. Los resultados en los microtubos IgG y AGH tienen que ser coincidentes, positivos o negativos.
- De ser positivo el resultado de PAD, informar el resultado en cruces (+).
- Se recomienda revisar/ investigar los resultados discrepantes que se obtengan.
- Se deben comprobar las reacciones negativas con los reactivos anti-D, utilizando otros reactivos y técnicas capaces de detectar diferentes variantes del antígeno D (ver Procedimiento Detección D variantes).
- En caso de obtener resultados discordantes en los microtubos **D^{VI-}** y **D^{VI+}** debe interpretarse como un antígeno D débil o parcial.

8.4 DETERMINACIÓN DE GRUPO ABO-RhD Y PAD DEL RECIEN NACIDO EN TUBO.

Esta técnica se realizará si:

- No se dispone de tarjetas de columna de gel.
- Existen resultados no concluyentes o discrepantes en columna de gel.

MATERIALES:

- Centrífuga para muestras de sangre.
- Gradilla de trabajo.
- Tubos de Khan de polipropileno y vidrio.
- Pipetas plásticas con bulbo.
PBS.
- DG Gel Sol.
- Centrífuga de inmunohematología.
- Caja de luz.
- Centrífuga para lavado de células.
- Sueros clasificadores: Anti A1, Anti B, Anti AB, AntiDIgG/IgM.
- Suero de Coombs.

PROCEDIMIENTO:

Responsables: TM Inmunohematología y/o Turno

Realizar una suspensión de GR lavados del RN al 4% en DG Gel Sol.

TP encargado debe rotular 5 tubos (A, B, AB, D y CD) e identificar con el número de la muestra.

Tubo 1 (A): 2 gotas de suero Anti-A + 1 gota de GR lavados al 4%.

Tubo 2 (B): 2 gotas de suero Anti-B + 1 gota de GR lavados al 4%.

Tubo 3 (AB): 2 gotas de suero Anti-AB + 1 gota de GR lavados al 4%.

Tubo 4 (D): 2 gotas de suero Anti-D IgG/IgM + 1 gota de GR lavados al 4%.

Tubo 5 (PAD): 2 gotas de suero Coombs+ 1 gota de GR lavados al 4%.

Examen Obligatorio en Clasificación de RN.

- Centrifugar 10 segundos a 3000 RPM en centrifuga de lavado de GR y leer inmediatamente sobre caja de luz, agitando los tubos suavemente, en busca de aglutinación y/o hemólisis.
- Registrar reacción en cruces en libro correspondiente, e indicar que corresponde a técnica en tubo.
- Ingresar resultados en sistema informático.
- Validar e informar a servicio solicitante.

LECTURA DE LOS RESULTADOS:

INTENSIDAD DE REACCIÓN (CRUCES)	ASPECTO
4+ (++++)	Botón (aglutinado) único. Fondo claro. Ausencia de células libres.
3+ (+++)	Presencia de aglutinados grandes. Fondo claro. Sin células libres.
2+ (++)	Muchos Aglutinados de tamaño medio. Fondo claro, Sin células libres.

1+ (+)	Muchos aglutinados pequeños. Fondo turbio por células libres.
(+/-)	Aglutinación apenas visible. Pocos aglutinados macroscópicos, pero numerosos aglutinados microscópicos. Fondo turbio por células libres
0 (-)	Ausencia de aglutinación.

INTERPRETACION:

La asignación del grupo sanguíneo se realiza de acuerdo tabla 1 y 2.
El resultado de PAD se debe informar en cruces (+).

OBSERVACIONES:

- Si existe aglutinación en todos los tubos, antes de informar como grupo AB, compruebe que no sea aglutinación inespecífica de la muestra. Para ello deposite dos gotas de la suspensión de GR en un tubo de Khan de vidrio y centrifugue 10 segundos a 3000 RPM. Si se observa aglutinación ó existen dudas, solicitar nueva muestra. Si la reacción es negativa, el grupo es AB.
- A veces será necesario realizar más de 3 lavados para retirar la gelatina de Wharton, éstos se realizarán en DG Gel Sol.
- Material contaminado puede causar falsos positivos, por lo que se debe verificar el estado del material antes de utilizarlo.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- Orientaciones para Centros de Sangre y Unidades de Medicina Transfusional del MINSAL
- Manual Técnico, Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunología, AABB, 13ª edición, 2001
- Inserto tarjetas DG Gel Newborn, Grifols.
- Procedimiento de lavado de glóbulos rojos en inmunohematología. HRC.

10. EVALUACION: NA

11. INDICADORES. NA

12. ANEXOS: NA